

## Zytologische Diagnostik in der Dermatologie

### Tipps und Tricks

Regina Wagner, Gerhard Lösenbeck



Abb. 1 Die Ursache infektiöser Hauterkrankungen ist mit bloßem Auge oft nicht zu diagnostizieren, mit Hilfe der Zytologie aber sehr schnell gefunden. In diesem Fall war die Ursache eine Hefeinfektion (Malassezien-Dermatitis).

Im Gegensatz zur Histologie (Gewebeuntersuchung), werden bei der Zytologie einzelne, aus dem Gewebeverband herausgelöste Zellen diagnostisch beurteilt („zyto“ von „Zelle“). Zytologische Proben zu gewinnen ist deshalb wesentlich einfacher und schneller möglich, als Gewebe für die Histologie zu entnehmen. Allerdings ist ihre diagnostische Aussagekraft häufig auch geringer.

### Wann sollte eine Zytologie durchgeführt werden?

Bei fast jeder Hauterkrankung ist eine einleitende zytologische Untersuchung zur Diagnostik sinnvoll. Viele komplexe Hauterkrankungen lassen sich zwar nicht allein zytologisch diagnostizieren, man bekommt jedoch eine wertvolle Entscheidungshilfe, ob und vor allem wann eine histologische Probe indiziert ist.

Besonders im Hinblick auf **oberflächliche Infektionserreger** leistet die Zytologie wertvolle Dienste. Ob es sich nun um nässende, fistelnde oder fettige Hautveränderungen handelt, um Pusteln oder Krusten, akute oder chronische Ohrenentzündungen, Knoten und Umfangsvermehrungen - in der Regel ist mit dem bloßen Auge nicht erkennbar, was der Auslöser ist (Abb. 1).

Ein Knötchen in der Haut kann durch eine Neoplasie (tumoröse Neubildung) verursacht sein, oder durch eine Entzündung - von außen ist der Unterschied nicht erkennbar, aber mittels Feinnadelaspiration und zytologischer Untersuchung des gewonnenen Materials kann die Unterscheidung gemacht werden. **Die Zytologie beweist jedoch nur das, was im Präparat zu sehen ist. Man muss immer die Möglichkeit im Auge behalten, dass es sich um einen falschnegativen Befund handelt. So könnte man z. B. an den Tumorzellen „vorbeiaspiriert“ haben.**

### Wie werden zytologische Präparate hergestellt?

Vorbereitungen am Patienten sind in der Regel nicht notwendig. Ganz im Gegenteil, jegliche Rasur oder Desinfektion kann die Oberfläche so verändern, dass gerade die wichtigen Informationen nicht mehr vorhanden sind.

Das benötigte **Material** ist billig und einfach zu bekommen:

- Objektträger mit Mattrand
- Bleistift oder wasserfester Filzstift zum Beschriften
- bei fettigen oder öligen Proben: Föhn oder Feuerzeug für die Hitze-fixierung

- sterile Nadel mit Spritze für die Feinnadelaspiration
- Klebestreifen für die Klebestreifenmethode
- geeignete Färbelösung

### Proben entnehmen

**Abklatschpräparat:** Ein Objektträger wird auf der Haut „abgeklatscht“ (vorsichtig aufgedrückt). **Krusten** werden vorher vorsichtig entfernt und entweder der Objektträger auf der darunter liegenden Läsion abgeklatscht, oder die Unterseite der Kruste auf den Objektträger abgetupft. Bei **fettigen Hautveränderungen** kann man eine Hautfalte nehmen und den Objektträger vorsichtig darüber „schmieren“. Hat man eine **Pustel** zu untersuchen, sticht man diese mit einer sterilen Nadel an, ein Tropfen des Pustelinhalts quillt heraus und auf diesen Tropfen „klatscht“ man ganz vorsichtig den Objektträger. Wurde eine **Neoplasie** chirurgisch entfernt, kann man das Gewebestück auseinander schneiden und die Schnittstelle auf dem Objektträger abtupfen.

**Klebestreifen:** Der Klebestreifen ist eine sehr gute Methode an Stellen, wo man

mit dem Objektträger entweder schwer hinkommt, oder wo das Abklatschen mit dem Objektträger schmerzhaft wäre, z.B. im Krallenbett. Man nimmt einen klaren Klebestreifen und „klatscht“ wie auf Seite 18 beschrieben auf die veränderte Stelle (mit der klebenden Seite nach unten).

**Tupfer:** Eine Probe aus dem **Ohrkanal** gewinnt man, indem ein Wattestäbchen oder ein Stieltupfer in den Kanal eingeführt und dann auf dem Objektträger ausgerollt wird. Bei tiefen fistelnden Veränderungen kann ebenfalls mit einem Tupfer Material aus der Tiefe des **Fistelganges** gewonnen werden. Auch im **Zwischenzehenbereich** oder in der **Mundhöhle** ist mit dieser Methode erfolgreich Material zu gewinnen. Bei fettigen Hautveränderungen kann der Tupfer vor Probenentnahme mit physiologischer Kochsalzlösung leicht angefeuchtet werden.

**Feinnadelaspiration:** Diese Technik verwendet man in der Dermatologie vor allem bei Umfangsvermehrungen oder für **Lymphknoten** (aspirieren = ansaugen). Es ist die einzige Methode, vor der Rasur und Desinfektion erlaubt sind.

Als Grundregel gilt: Je weicher das Gewebe, desto feiner die Kanüle (20G bis 25G). Eine Spritze mit aufgesteckter Kanüle (armiert) wird in das Gewebe eingestochen, dann wird durch Zurückziehen des Spritzenkolbens auf die Hälfte des Zylinders ein Vakuum erzeugt.



Abb. 2 Ein Klebestreifen kann mit einer Romanowsky-Färbung gefärbt werden, bevor er auf den Objektträger aufgebracht wird.

Unter Aufrechterhaltung des Vakuums zieht man nun die Kanüle bis unter die Oberfläche des Gewebes zurück und sticht mindestens zweimal, jeweils in verschiedene Bereiche der Umfangsvermehrung, wieder ein. Um zu verhindern, dass das aspirierte Material aus der Kanüle in die Spritze gelangt, wird das Vakuum durch Zurückgleitenlassen des Spritzenkolbens aufgehoben (0 ml), während die Kanüle noch im Gewebe steckt. Erst dann wird die Kanüle herausgezogen.

Um das Probenmaterial aus der Spritze auf den Objektträger zu bringen, entfernt man zunächst die Kanüle (in der sich das Probenmaterial befindet) von der Spritze, zieht Luft in die Spritze auf, steckt die Kanüle wieder auf und spritzt den Kanülinhalt auf die Mitte eines oder mehrerer Objektträger.

Ist viel Material auf dem Objektträger, muss es evtl. noch ausgestrichen werden. Ziel des Ausstreichens ist, eine Proben dicke von nur einer Zellschicht zu erreichen (Monolayer), um Einzelzellen beurteilen zu können.

Es gibt zwei Ausstreichtechniken:

1. Wie bei der Erstellung eines Blutausstriches wird mit Hilfe eines Deckgläschens das Probenmaterial auseinander gezogen.
2. „Squash“-Technik: Man legt einen zweiten Objektträger auf das Probenmaterial, der Ausstrich erfolgt durch gegeneinander Verschieben und Auseinanderziehen der Objektträger. Die Präparate werden luftgetrocknet und vor dem Färben nicht weiter behandelt.

**Geschabsei:** Diese Technik ist gut geeignet, um fettiges oder schuppiges Material auf einen Objektträger zu bekommen. Man nimmt eine Skalpellklinge und schabt vorsichtig etwas von den Hautschuppen ab und schmiert das Material dann - wie Butter auf ein Brot - auf den Objektträger.

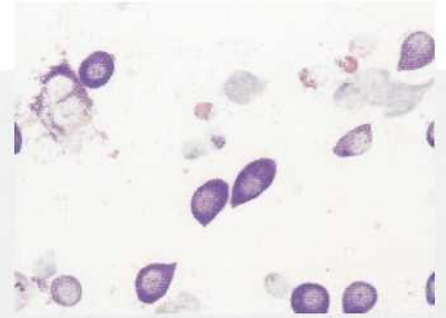


Abb. 3 Findet man Tumorzellen im zytologischen Präparat, kann man zwar häufig erkennen, ob sie gut- oder bösartig sind und welchem Zelltyp sie entstammen, eine endgültige Diagnose und Prognose sind zytologisch jedoch nicht immer möglich (hier ein gut differenzierter Mastzelltumor).

Falls ein flüssiges **Punktat** in ein Labor eingesandt wird, bei dem neben der Zytologie auch noch andere Untersuchungen gemacht werden sollen (z.B. eine bakteriologische Untersuchung), sind vorher unbedingt Ausstriche von diesem Punktat anzufertigen. Das Punktat unterliegt nämlich der Autolyse („Selbstauflösung“), die Aussagekraft der Zellen lässt sehr schnell nach und die Ausstriche daraus werden dann schnell nicht mehr beurteilbar.

### Beschriften

**Sobald das Probenmaterial auf dem Objektträger ist, sollte man diesen unbedingt beschriften.** Bei Objektträgern mit Mattrand schreibt ein Bleistift sehr gut, bei Objektträgern ohne Mattrand muss man einen wasserfesten Filzstift verwenden. Vermerkt werden sollten der Besitzernamen, evtl. der Tiername und der Entnahmeort (z.B. Maier, Benny, Ohr). Werden die Objektträger archiviert, werden auch das Datum und evtl. eine Diagnose notiert.

### Fixieren

Der Objektträger wird nur bei fettigem Material (fettige Seborrhoe, Ohrentupfer) hitzefixiert, andere Materialien lässt man nur kurz lufttrocknen. Klebestreifen dürfen natürlich nicht erhitzt werden. Zum Hitzefixieren kann man entweder einen Föhn verwenden, oder kurz ein Feuerzeug an die Unterseite des Objektträgers halten.

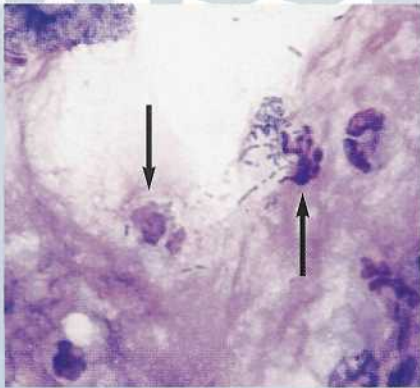


Abb. 4 Innerhalb der degenerierten neutrophilen Granulozyten (Pfeile) sind stäbchenförmige Bakterien phagozytiert. Dies beweist eine aktive eitrige, durch Bakterien verursachte Infektion.

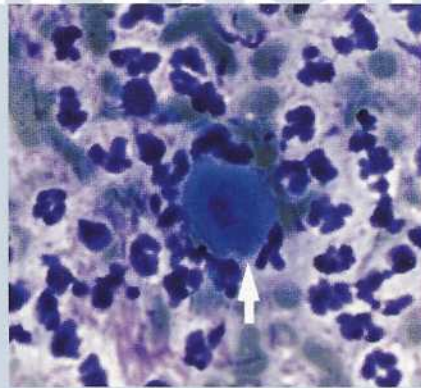


Abb. 5 Der Pfeil zeigt auf eine akantholytische Zelle, umgeben von vielen neutrophilen Granulozyten.

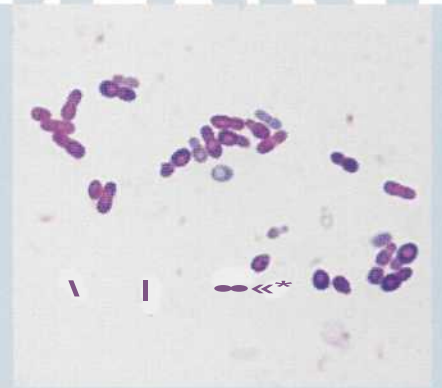


Abb. 6 Die „pantoffelförmigen“ Hefepilze zeigen eine Infektion mit *Malassezia pachydermatis*.

**Achtung: Ist das Präparat zu lange der Hitze ausgesetzt, können die Zellen zerstört werden.**

Befindet sich Ruß an der Unterseite des Objektträgers, muss dieser entfernt werden, da sonst die Färbelösung verunreinigt wird.

### Färben

Es gibt verschiedenste Färbungen, am unkompliziertesten sind jedoch die Schnellfärbemethoden Hemacolor® und DiffQuick® (Färbesysteme nach Romanowsky).

Das Färben ist der Beschreibung des Färbemittels entsprechend durchzuführen. Beim DiffQuick® heißt das: jeweils 5 x 1 sec in jede Lösung tauchen. Es passiert aber normalerweise auch nicht viel, wenn man einen Objektträger für eine kurze Weile in einer der Färbelösungen vergisst; außer dass die Färbung rot- oder blautichig wird. Der Klebestreifen wird ebenso gefärbt wie ein Objektträger (Abb. 2) und danach mit der klebenden Seite nach unten auf einen Objektträger geklebt. Nach dem Färben wird kurz mit Wasser abgespült, trocken geföhnt oder vorsichtig abgetupft.

Die Färbelösungen bedürfen keiner be-

sonderen Pflege. Man sollte jedoch anpassen, dass kein Schmutz von verunreinigten Objektträgern hineingelangt. Wie oft die Lösungen gewechselt werden müssen, hängt von der Probenmenge ab. **Das Auftreten von Artefakten (z.B. Farbschlieren) ist ein Hinweis, dass die Färbelösung längst hätte gewechselt werden müssen.**

### Was wird mikroskopisch beurteilt?

Beim Mikroskopieren wählt man zunächst eine kleine Vergrößerung (40-fach), um eine geeignete Stelle im Präparat zu finden. Danach geht man, je nach Geschmack, in die 600fache oder die Ölimmersion (1.000fach), um einzelne Zellen zu beurteilen. Wenn man zwischen Klebestreifen und Objektträger einen Tropfen Paraffinöl gibt, ist das Präparat besser zu beurteilen.

Mit Romanowsky-Färbesystemen färben sich Zellkerne, Bakterien und Malassezien (Hefen) blauviolett an, das Zytoplasma (Zelleib) blau und eosinophile Granula (im Zytoplasma) rot. Man kann zwischen runden (Kokken) und stäbchenförmigen, jedoch **nicht** zwischen grampositiven und gramnegativen Bakterien unterscheiden.

Braucht man eine Differenzierung zwischen grampositiven und gramnegativen Bakterien, eine Unterscheidung von Tumorzellen, oder vermutet man bestimmte Erreger, wie z.B. Nocardien oder Borrelien, sollte man immer auch Präparate **nativ** (ungefärbt) lassen, um sie für Spezialfärbungen ins Labor zu senden.

**Prinzipiell ist es gut mehrere Proben (auch native) einzusenden, um eine höhere diagnostische Sicherheit zu erreichen.**

Eine wichtige Unterscheidung, die mit der Zytologie getroffen werden kann, ist die zwischen einer Entzündung und einem Tumor (neoplastisches Zellbild).

Bei **Tumoren** kann man zwar mit der Zytologie oft Rückschlüsse auf ihren Ursprung ziehen (Abb. 3), für eine endgültige Beurteilung von Krebszellen ist sie jedoch nicht ausreichend.

Eine (grobe) Unterscheidung zwischen gut- und bösartigen Zellen ist zwar möglich, wie invasiv der Tumor in das umgebende Gewebe eindringt, oder ob er metastasiert, weiß man damit jedoch noch nicht. Nur eine histologische Untersuchung sowie weitere diagnostische Untersuchungen können diese sogenannten Malignitätskriterien (maligne = bösartig) erfassen und eine Prognose

se über die Heilungschancen ermöglichen.

Bei Entzündungen kann man anhand des Zellbildes häufig unterscheiden, ob es sich um ein akutes oder ein chronisches Geschehen handelt. Neben den für eine Entzündung charakteristischen neutrophilen und basophilen Granulozyten (Abb. 4), findet man bei chronischen Prozessen auch Lymphozyten und Plasmazellen.

Die Ursache der Entzündung findet man mit der Zytologie heraus, wenn sich Erreger oder bestimmte Zelltypen nachweisen lassen. Beispiele für charakteristische Zelltypen sind:

- eosinophile Granulozyten (unter anderem bei ektoparasitären Erkrankungen)
- akantholytische Zellen (abgerundete Kerationozyten (Abb. 5), typisch für Pemphigus foliaceus, eine Autoimmunerkrankung)

Ein wichtiges Einsatzgebiet für die Zytologie ist auch die Klärung, ob eine Hautentzündung bakteriell (Pyodermie) oder durch Hefen (Malassezien-Dermatitis) bedingt wird. Es ist klinisch sehr oft nicht möglich, dies zu unterscheiden (Abb. 1). Findet man Bakterien (meist *Staphylococcus intermedius*), können diese intra- oder extrazellulär liegen (Abb. 4). Intrazellulär (phagozytiert) sind sie ein Zeichen einer aktiven eitrigen Entzündung. Bei einer Malassezien-Dermatitis findet man im Präparat „pantoffelförmige“ Hefen (Abb. 6).

#### Anschrift der Autoren:

Dr. med. vet. Regina Wagner,  
Fachtierärztin für Dermatologie  
Dr. med. vet. Gerhard Lösenbeck,  
Fachtierarzt für Pathologie  
Laboklin GmbH & Co. KG  
Prinzregentenstr. 3  
D-97688 Bad Kissingen

## Multiple Choice-Fragen

Es können eine oder mehrere Antworten richtig sein.

**Frage 1** Welche der Aussagen trifft auf die Zytologie nicht zu?

- A wird mikroskopisch untersucht
- E wird zur Diagnose von Entzündungen verwendet
- F kann eine Entzündung nicht von einem Tumor unterscheiden
- G wird zur Beurteilung von Zellen verwendet

**Frage 2** Wann ist die Durchführung einer Zytologie nicht sinnvoll?

- 1 bei Hauterkrankungen
- Ä zur Beurteilung von Malignitätskriterien
- Ö bei Ohrenentzündungen
- Ü bei Umfangsvermehrungen
- T bei Pemphigus-Verdacht

**Frage 3** Welche Aussage(n) zu den Vorbereitungen ist/sind richtig?

- R In der Regel sind keine Vorbereitungen notwendig.
- S Man muss vor der Zytologie immer rasieren und desinfizieren.
- T Man muss den Hund sedieren.
- U Die Durchführung einer Zytologie erfordert viel zeitlichen und finanziellen Aufwand.
- V Man braucht für die Vorbereitung unbedingt einen sterilen Vorbereitungsraum.

**Frage 4** Was braucht man nicht zum Herstellen eines zytologischen Präparates?

- A einen Föhn oder ein Feuerzeug für die Hitzefixierung
- B eine Hautstanze
- C einen Klebestreifen
- D eine geeignete Färbelösung
- E Objektträger

**Frage 5** Welche der Methoden verwendet man nicht bei der Herstellung von zytologischen Präparaten?

- S Abklatschpräparat
- T Klebestreifen
- U Ultraschall
- V Feinnadelaspiration
- W Geschabsei

**Frage 6** Welche der Behauptungen zur Präparatherstellung, Fixation und Färbung ist/sind nicht richtig?

- O Der Objektträger wird bei fettigem Material hitzefixiert.
- P Der Objektträger wird mit DiffQuick® gefärbt, indem er 5x 1sec in jede Lösung getaucht wird.
- R Mit dem DiffQuick® kann man zwischen runden (Kokken) und stäbchenförmigen, jedoch nicht zwischen grampositiven und gramnegativen Bakterien unterscheiden.
- N Man braucht einen Objektträger nicht zu beschriften, da man aufgrund des mikroskopischen Bildes weiß, wo die Probe entnommen worden ist.

**Frage 7** Welche der folgenden Aussagen zur Interpretation eines Befundes ist/sind nicht richtig?

- F Man kann entzündliche von neoplastischen Zellbildern unterscheiden.
- C Beim neoplastischen Zellbild kann man anhand der Zytologie genau sagen, welcher Tumor es ist.
- H Entzündliche Bilder beinhalten meist neutrophile und basophile Granulozyten.
- I Bakterien können intra- oder extrazellulär liegen.
- J Eine Malassezien-Dermatitis ist über die Zytologie zu diagnostizieren.

Lösungswort: Färbung

Antwort

▶